

UDK: 619:616981.51

QUDUZLUQ XƏSTƏLIYININ DIAQNOSTİKASININ BIOTƏHLÜKƏSİZLİK QAYDALARINA UYGUNLAŞDIRILMASI VƏ EFFEKTIV METODUN SEÇİLMƏSİ

Ş.K. ZEYNALOVA

Quduzluq xəstəliyi Azərbaycan üçün endemikdir. Hər il yüzlərlə insan itlərin hücumuna məruz qalır və nəticədə ölüm halları baş verir. Xəstəliyin daşıyıcısı olan vəhşi heyvanlar kənd təsərrüfatı heyvanlarına hücum edir, onlara xəsarət yetirərək fermerlərə maddi ziyan vurur.

Məqalədə quduzluq xəstəliyinin diaqnostikası, PZR müayinəsinin tətbiqi və bu müayinənin üstün tərəfləri göstərilmişdir.

Açar sözlər: Quduzluq, biotəhlükəsizlik, PZR, riskin qiymətləndirilməsi

Quduzluq, lissaviruslar tərəfindən törədilən iti gedişli zoonoz xəstəlikdir. Xəstəlik bütün növ istiqanlı və insanların mərkəzi sinir sisteminin tamamilə zədələnməsinə səbəb olur (1). Quduzluq hər il, əsasən inkişaf edən ölkələrdə 70,000 insanın ölümünə səbəb olur. Bu ölümlərin 95%-nə it dişləməsi səbəb olur (3). Xəstəliyin tövədicisi itlər, pişiklər, vəhşi heyvanlar və yarasalar yayır. Xəstəliyin inkubasiya dövrü dişləmənin yeri və virusun virulentliyindən asılı olaraq dəyişir.

Quduzluğun qarşısını ancaq vaksinasia etməklə almaq olar. Vaksinasia olmasa, mütləq ölümə nəticələnən xəstəlikdir. Lakin vaksin dərhal vurulmalıdır, yəni simptomlardan öncə. Xəstəliyin hələdə müalicə yolunun olunmaması, erkən diaqnostikanın vacibliyini ön plana çəkir.

Azərbaycanda quduzluq xəstəliyinin müayinəsi.

Quduzluq xəstəliyinin müayinəsi ölkədə yalnız Kənd Təsərrüfatı Nazirliyi yanında, Dövlət Baytarlıq Nəzarəti Xidməti yanında Respublika Baytarlıq Laboratoriyasının virusologiya şöbəsində aparılır. Müayinələr iki hissədən ibarətdir: immunofluoresent mikroskopiya və bioloji sınaq. Uzun illərdir bu müayinələr yeganə metod kimi istifadə olunurdu. Molekulyar analizlərin geniş yayılması, quduzluq xəstəliyinin diaqnostikasında təsir edir. Polimeraza Zəncirvari Reaksiyası (PZR) yüksək spesifikliyə və həssaslığa malikdir. Müayinə biotəhlükəsizlik qaydalarına uyğun aparılırsa, ehtimal və nəticə minimuma enər. Bundan başqa nəticələrin 3 saat ərzində bilinməsi, diaqnostikanın ən vacib hissəsi olan erkən diaqnostikanı təmin edir. 1 mart 2016-cı ildən RBL-nin virusologiya şöbəsində quduzluğun müayinəsinə dəyişiklik edələrək, bioloji sınağın əvəzinə Real zamanlı PZR üsuluna keçilmişdir.

Material və metodlar. Xəstəlik heyvandan insana keçdiyi üçün, nümunə toplanılması Beynəlxalq Epizootik Büronun təlimatlarına əsasən aparılır (BEB 1996). Quduzluq xəstəliyinə şübhə edilən heyvan 30 gün karantinə götürülür, yəni ətraf mühitdən izolyasiya edilir. Karantin müddətində heyvan ölərsə, yerli baytar həkimi tərəfindən başı kəsilir və müşayiətedici sənədlərlə RBL-na göndərilir.

Riskin qiymətləndirilməsi BEB-in və ABŞ-ın Xəstəliklərin Nəzarət Mərkəzinin (XNM) təlimatları əsasında aparılmışdır (4).

İFR. Quduzluq xəstəliyi üçün RBL-na heyvanların kəsilmiş başı daxil olur. Başda yarma aparılır və təlimata uyğun olaraq immuno-fluorissensiya (İFR) metodu ilə boyanır. Beyinin ən azı iki yerindən yaxma hazırlanır. Hazırlanmış yaxmalara immunofluoresent mikroskop vasitəsi ilə baxılır. Antigen və anticisim birləşməsindən yaranmış açıq-yaşıl parıltılar, quduzluq virusunun olmasının göstəricisidir (3).

Biolojin sınaq. Mənfi və müsbət nəticə vermiş nümunələrdən suspenziya hazırlanır və ağ siçanların beyninə vurulur. Hər nümunə üçün 5 ədəd ağ siçan götürülür. 21 gün ərzində siçanlar nəzarətdə saxlanılır. Bu müddət ərzində ölmüş siçanların biyindən hazırlanmış yaxmalar mikroskopiya olunur və son diaqnoz verilir.

PZR. Beyin nümunələrindən suspenziya hazırlanır və Qiagen dəstlərinin təlimata uyğun olaraq ekstraksiya edilir. Əldə edilmiş RNT üçün Biorad (ABŞ istehsalı) dəstlərindən mastermiks hazırlanır (Cədvəl 1.).

Hazırlanmış nümunələr 19 µl tyublara əlavə olunur və Biorad Real zamanlı PZR maşınına yerləşdirilir. Nəticələr CT dəyərlərə və qrafığa görə dəyərləndirilir.

Adı	İlkin konsentrasiya	1 nümunə üçün miqdarı
H2O	As Supplied	7,55
iTaq Universal SYBR Green reaction mix	As supplied	10,00
JW12	20µM	0,60
N165-146	20µM	0,60
iScript RT enzyme mix	As supplied	0,25
Total Volume		19,00

Nəticə. RBL-da quduzluq nümunələrinin müayinəsi mikroskopiya və bioloji sınağa əsaslanaraq verilirdi. Bioloji sınaq çox təhlükəli bir müayinədir. Bu səbəbdən əvvəlcədən riskin qiymətləndirilməsi aparılmışdır. Bu prosesdə nəzərə aldığımız aspektlər:

- infeksiyanın yoluxma yolları;
- materialla işləyən zaman, aerosolun əmələ gəlmə ehtimalı;
- laboratoriyanın yerləşməsi;
- laboratoriyanın və işçilərin iş yükü;
- Laboratoriyanın biotəhlükəsizlik səviyyəsi;
- personalın kvalifikasiyası;
- personalın vaksinasiya edilməsi;

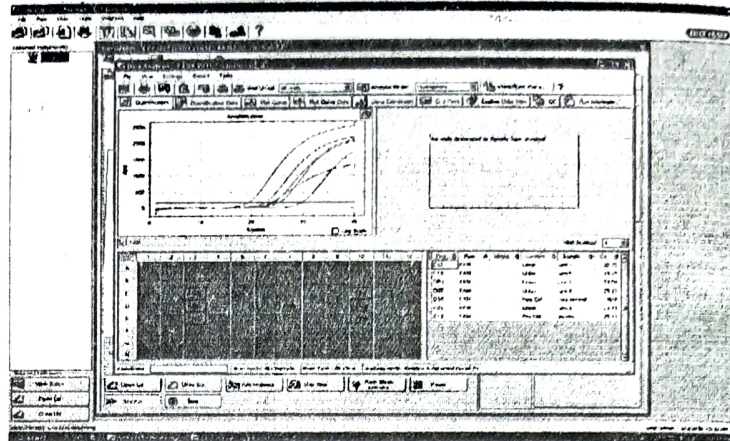
Yuxarıda qeyd edilən parametrlər araşdırılmışdır. Nəticədə müəyyən edilmişdir ki, ağ siçanlara biopsiya edərkən iynə ələ bata bilər. Misal üçün, 2014-cü ildə siçana iynə vurarkən, iynə personalın əlinə batır və həmin işçi məcburi vaksinasiya edilir. Bioloji sınağı aparan şəxs quduzluq xəstəliyinə qarşı vaksinasiya olunmalıdır, çünki ehtimalın nəticəsi dördüncü dərəcəlidir.

Materialla işləyən zaman aerosolların əmələ gəlmə ehtimalı yüksəkdir (suspensiyanın sentrifugası, iynənin ucunda olan müəyyən hava miqdarı). Quduğun müayinəsi müvafiq otaqlarda aparılır və digər müayinə proseslərinə qarışmır. Personalın kvalifikasiyası yüksək qiymətləndirilmişdir. Bu otaqlar xüsusi biotəhlükəsizlik şkaflı, sentrifuga, termostat və digər lazımi ləvazimatlarla təchiz edilə bilər.

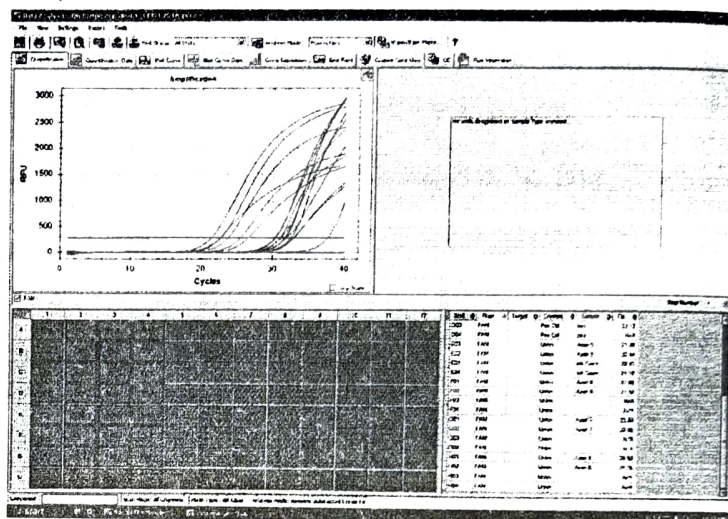
Bioloji sınağın çatışmayan cəhətlərindən biridə uzun müddətli olmasıdır. Bu müddət ərzində nəticədən asılı olmayaraq 30 gün ərzində siçanlar bixslərdə saxlanılır. Hər gün qida verilməsi üçün bixslər açılır ki, nümunənin müsbət olduğunu nəzərə alsaq, bu işi görən personal riskə atır.

Şəkil 1 və 2-də PZR müayinəsinin nəticələri göstərilir. Şəkildə nümunələrin adları, CT göstəriciləri, oyuqlarda yerləşmələri verilmişdir.

Yuxarıda qeyd olunanları nəzərə alaraq demək olar ki, RBL-nın virusologiya şöbəsi quduzluq xəstəliyinin müayinəsində biotəhlükəsizlik qaydalarına uyğun olaraq PZR müayinəsindən istifadə edir.



Şəkil 1.



Şəkil 2.

Müzakirə. Bioloji materialla işləyən laboratoriyalarda, biotəhlükəsizlik qaydalarının tətbiq edilməsində kompleks tədbirlər istifadə edilir. Bura adminstrativ nəzarət, laboratoriya praktikası və prosedurlar, infeksiyon materialın yayılması ilə bağlı fəvqaladə hallara qarşı tədbirlər, Quduğun müayinəsi zədələnmiş beyində virusun aşkar edilməsinə əsaslanır. Böyük Britaniyada heyvan ehtafaziya olunur və 2 saat müddətində nümunə götürülərək baytarlıq laboratoriyasına göndərilir. 24-72 saat ərzində nəticələr məlum olur. Nəticələr İFR və PZR ilə təsdiq edilir. Müayinə edilmiş 120.000 nümunədən, 6% -ə qədər müsbət olur. (4). Bu nəticələr risk ehtimalının aşağı olduğunu göstərir. Azərbaycanda 2015-ci il ərzində RBL-na 49 nümunədən 35 baş (71%) müsbət olur. (2) Daxil olmuş nümunənin sayının az olmasına baxmayaraq, pozitivlik dərəcəsi yüksəkdir.

Diagnostik laboratoriyaların nəticələrinin effektivliyi erkən diaqnostikadan asılıdır. Bunun üçün yeni avadanlıqlar alınır, yeni müayinə üsulları tətbiq edilir və PZR müayinəsidə bu müayinələrdən biridir.

1. E.A. Əliyev., İ.M.Əzimov, U.M. Vəliyev, N.V.Səfi, Epizootologiya və infeksiya xəstəlikləri//Bakı, Uniprint, 2013, səh.431-442. 2. Respublika Baytarlıq Laboratoriyasının 2015 –ci il üçün illik hesabatı. 3. www.oie.com . 4. www.cdc.gov

Применение правил биобезопасности в диагностике бешенства и выбор эффективного метода

Ш.К.Зейналова

Бешенство эндемическое заболевание для Азербайджана. Каждый год несколько тысяч людей, подвергаются атакам собак и в результате растет смертность среди людей. Носители болезни, дикие животные нападают на сельскохозяйственные животные и тем самым фермеры получают материальный ущерб.

В статье описано диагностика бешенства, применение метода ПЦР как ранняя идентификация вируса, а также положительные стороны этого метода..

Ключевые слова: бешенство, биобезопасность, ПЦР, оценка риска

The use of biosafety regulations in the diagnosis of rabies and the choice of an effective method

Sh.K. Zeynalova

Rabies is endemic for the Azerbaijan. Every year thousands of people are attacked dogs, and as a result of rising mortality among men. The carriers of the disease, wild animals attacking livestock and thereby farmers receive material damage. The article describes the diagnosis of rabies, the use of PCR as the early identification of the virus, as well as the positive aspects of this method.

Key words: rabies, biosafety, PCR, risk assessment